DOI:10.11931/guihaia.gxzw201811008

贵州石笔木种子内源有机化合物及对种子萌发的影响

吕晓梅[1]，邹天才[2]，汪建文[2]，洪江[2]，刘海燕[3*]，郭米香[4]

(1. 黔西南州布依族苗族自治州南盘江国有林场，贵州 兴义 562400；2. 贵州科学院，贵阳 550001；3.贵州省植物园，贵阳 550004；4. 贵州大学林学院，贵阳 550025）

摘要：采用浸提法和 GC-MS 检测了贵州石笔木种子内源有机化合物种类、相对含量，以及种皮和胚乳在不同溶剂、温度和浓度条件下的浸提物活性。结果显示：（1）种皮和胚乳中皆含有有机酸、烯、酯、醇、醛、酚等 6 类相对含量较高的有机化合物，其中种皮含有机酸 7 种、烯类 1 种、酯类 5 种、醇类 3 种、醛类 3 种、酚类 1 种，胚乳含有机酸 6 种、烯类 1 种、酯类 1 种、醇类 1 种、醛类 1 种、酚类 1 种；（2）种皮浸提物活性显著高于胚乳浸提物活性($P<0.05$)，且其烯、醛、醇和酯类含量分别高出胚乳含量的 8.78%、2.66%、2.15%和 1.70%，可能是对种子萌发起主要作用的内源抑制物质；（3）不同条件下处理的浸提液均能显著抑制白菜种子发芽及幼苗生长，浸提液抑制物活性表现为醇溶剂大于水溶剂，并随着浸提液浓度的升高而增大、随着浸提温度的升高而增强，在初始温度为 100 ℃时，浸提液抑制活性达到最大值。贵州石笔木种子的内源有机化合物在种子萌发过程中发挥着不同程度的抑制作用，探索其与种子萌发的作用机制，解决种子萌发育苗的关键技术及在农林业生产中应用，这在植物种子的生物学特性及萌发生理研究方面具有重要意义。

关键词：种子活力，种子内源抑制物，GC-MS 鉴定，萌发生理，贵州石笔木

中图分类号：Q945　　　　**文献标识码：**A

Effects of endogenous inhibitors and their activities on seed germination of *Tutcheria kweichowensis*

LÜ Xiaomei[1], ZOU Tiancai[2], WANG Jianwen[2], HONG Jiang[2], LIU Haiyan[3*], GUO Mixiang[4]

(1. *Nanpanjiang State Forestry Farm*, *Buyi and Miao Autonomous Prefecture*, *Southwest Guizhou*, Xingyi 562400, Guizhou, China; 2. *Guizhou Academy of Sciences*, Guiyang 550001, China; 3. *Guizhou Botanical Garden*, Guiyang 550004, China; 4. *College of Forestry*, *Guizhou University*, Guiyang 5500, China)

Abstract: The components and contents of endogenous inhibitors inseed germination of *Tutcheria*

基金项目：国家自然科学基金（31560097）；贵州省科技计划（黔科合[2016]支撑 2836 号、黔科合成果[2019]4237 号）[Supported by the National Natural Science Foundation of China(31560097); the Science and Technology Support Program Project(2016-1058)&Achievement Transformation Program Project(2019-4237)of Guizhou Science and Technology Department, Guizhou Province]。

作者简介：吕晓梅（1992–），女，河南洛阳人，硕士，研究方向为林学，（Email）1305078584@qq.com。
***通信作者：**刘海燕，博士研究生，研究员，研究方向为森林植物学，（Email）120587539@qq.com。

kweichowensis were identified by extraction method and GC-MS, as well as the activity of extracts from seed coat and endosperm in different solvents, temperatures and concentrations. The results showed that: (1) The seed coat and endosperm contained 6 kinds of organic compounds, such as organic acids, olefins, esters, alcohols, aldehydes, phenols and so on. The seed coat contained 7 organic acids, 1 alkene, 5 esters, 3 alcohols, 3 aldehydes and 1 phenol. The endosperm contained6 organic acids, 1 alkene, 1 ester, 1 alcohol, 1 aldehyde and 1 phenol. (2) The activity of extracts from seed coat was significantly higher than that of endosperm extract (P<0.05), and the contents of olefins, aldehydes, alcohols and esters were 8.78%, 2.66%, 2.15% and 1.70% higher than that of endosperm. (3) The extracts from different conditions could significantly inhibit the germination and seedling growth of *Brassica pekinensis*. The activity of extract inhibitors was higher in alcohol than in water, and increased with the increase of extract concentration and temperature. When the initial temperature was 100 ℃, the inhibitory activity of the extract reached the maximum. The endogenous inhibitors of *T. kweichowensis* have different inhibitory effects on seed germination, exploring its mechanism of seed germination, solving the key technology of seed germination and seedling and application in agricultural and forestry production, which is of great significance in the research of biological characteristics and Germination Physiology of plant seeds.

Keywords: seed vitality, endogenous inhibitors of seeds, GC-MS identification, germination physiology, *Tutcheria kweichowensis*

种子的发育、内源物质积累及与休眠调控研究，既是深入理解植物生殖发育相关的重要基础科学问题，也可为提高经济植物的产量和品质育种提供科学依据（刘春明等，2016），种子休眠的原因一般包括胚未成熟、种皮构造特殊和含有内源抑制物质三个方面(中山包，1988；卡恩，1989)，前人通过对种子内源抑制物的研究，为解决种子休眠机理及其破眠技术问题提供了参考，四川牡丹种子休眠的根本原因来自于其内源抑制物的作用（宋会兴等，2012），野鸦椿种子内源抑制物质的存在是其种子深度休眠的主要原因（廖源林等，2016），以及通过研究不同方法处理南方红豆杉种子内源抑制物的活性找到了破除休眠的方法（年慧慧等，2012），等等。植物种子内的有机酸、酚类及脂类化合物是影响种子萌发的内源抑制物质（陈敏等，2017；景新明等，1999；赵敏，2003；孙佳等，2012；刘超等，2013)，抑制物质在种子中的存在部位不同，抑制作用及其解除方法也不同（胡俊杰等，2016 刘路璐，2016；刘序等，2018），因此，探索植物种子内源抑制物质及其活性与作用机制，解决好休眠种子育苗关键技术及在农林业生产中应用具有重要意义。

贵州石笔木(*Tutcheria kweichowensis*)为山茶科石笔木属分布最北的物种(28 °N)，常绿乔木、树形美观、材质优良、贵州特有（张宏达，1988），其果实富含蛋白质、脂肪、茶多酚、VE、VC 等，颇具经济开发价值。但由于其自然繁殖率低、分布区狭窄，局部种群普遍，在野生状态下，种子萌发困难，林下更新幼苗少见，已成为具有 Meta-种群生态特征的珍稀濒危植物（邹天才，2001）。

目前对贵州石笔木的研究主要集中在植物资源调查及其物种保护与利用评价等方面（吕晓梅等，2017；刘海燕，2007），而对贵州石笔木种子内源有机化合物检测及其对种子萌发作用研究的报道鲜见，本文测试分析了贵州石笔木种子内源有机化合物种类、相对含量及其活性作用，探讨了其在不同种子部位、溶剂、温度和浓度条件下的浸提液对种子萌发的影响，可为解决贵州石笔木的种子储藏与播种育苗问题及其生产应用提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验种子采自贵州省赤水市葫市镇金合村的野猪坪林区，采种的树高 30~40 m，树龄 10~20 a，随机设 5 个样方，每样地采集种子 5 kg，在通风干燥处自然晾干后，再将种子、种皮、胚乳(含胚)碾成粉末放入 4 ℃冰箱备用。供试大白菜(*Brassica pekinensis*) 种子购买于贵阳市花溪区种子销售公司。

1.2 试验方法

1.2.1 不同处理种子的浸提液对白菜种子萌发的影响

以蒸馏水浸种作对照，采用 3 种处理方式提取浸提液开展试验，即：（1）分别使用蒸馏水、80%甲醇作溶剂，浸提贵州石笔木种子、种皮、胚乳的粉末；（2）初始温度分别为 70、80、90、100 ℃的蒸馏水浸提贵州石笔木种子粉末（叶常丰，1994）；（3）分别量取 25、50、75、100 mL 初始温度为 100 ℃种子粉末的浸提液，蒸馏水定容至 100 mL，设置浓度梯度为 25%、50%、75%、100%的实验组份。分别称量 5 g 待浸提物置于 100mL 锥形瓶中，加入 100 mL 溶剂，保鲜膜封口，4 ℃条件下密闭浸提，间歇震荡使其充分浸提，48 h 后取出，布氏漏斗抽滤获取浸提液，放入 4 ℃冰箱保存备用。检测统计经浸提液浸泡的白菜种子萌发率（%）、根长（cm）和苗高(cm)。重复 3 次。

1.2.2 种子内源抑制物质的提取分离

取种皮、胚乳粉末各 10 g 置于锥形瓶中，加入 80%甲醇溶液使种子粉末完全浸没，4 ℃条件下密闭浸提，间歇震荡使其充分浸提，每隔 24 h 将浸提液用布氏漏斗抽滤，收集滤液后再重新加入 80%甲醇溶液浸提，反复多次，浸提至浸提液颜色与浸提剂相似为止，再将所有滤液混合。采用系统溶剂分离法对种皮、胚乳的甲醇浸提液进行分离（黄耀阁，1994），将依次得到的石油醚相、乙醚相、乙酸乙酯相、甲醇相分别置于旋转蒸发仪 RE-52AA 上进行减压浓缩蒸发得到干物质，然后用相应有机溶剂定容为 2 mL，置于 4 ℃冰箱中保存。使用仪器系美国安捷伦公司联用仪(HP6890/5975C GC/MS)，微量注射器注入 1 μL 样品溶液，毛细管柱色谱分析(ZB-INOWAX，30 m×0.25 μm×0.25 mm)。初始温度 45 ℃，保持 2 min，再以 5 ℃•min^{-1} 升温至 230 ℃，保持 16 min，运行时间 55 min，汽化室温度 250 ℃，载气为高纯 He(99.999%)，柱前压 7.64 psi，载气流量 1.0 mL•min^{-1}，不分流，溶剂延迟时间 5.0 min，EI 离子源温度 230 ℃，四极杆温度 150 ℃，电子能量 70 eV，发射电流 34.6 μA，倍增器电压 1 612 V，接口温度 280 ℃，质量控制范围 29~500 amu。

1.2.3 种子内源抑制物质的鉴定

总离子流图及其各峰数据，采用质谱计算机系统检索分析，经核对 Nist2005 和 Wiley275 的标准质谱样图，确定挥发性化学物质。用峰面积归一化法测定各化学成分的相对质量分数，以种皮和胚乳各分离相的离子流程图的全部峰面积总和设为 100%，每个峰面积与总面积之比值则代表了该成分在提取物中的相对含量。

1.3 数据处理

采用 SPSS 21.0 统计软件多因素方差模型（陈胜可，2013）和 Excel 软件图表方法对试验数据进行方差分析和多重比较（孙晓刚等，2016）。

2 结果与分析

2.1 不同种子部位、溶剂、浓度、温度浸提液对白菜种子萌发的影响

试验结果表明（表 1）：白菜种子发芽率、根长和苗高都小于对照，抑制大小为种皮甲醇溶液>种子甲醇溶液>种皮水溶液>种子水溶液>胚乳甲醇溶液>胚乳水溶液，差异显著(P<0.05)。浸提溶剂相同时，种皮浸提液处理显著小于胚乳浸提液的处理，说明种皮中的内源抑制物含量或活性高于胚乳。采用甲醇溶剂和水溶剂浸提贵州石笔木种子，其浸提液处理的白菜种子发芽率、根长、苗高全部小于对照，差异显著(P<0.05)。浸提的种子部位相同时，甲醇溶剂浸提液处理显著小于水溶剂浸提液处理，表明贵州石笔木种子内源抑制物质的醇溶性大于水溶性。不同浓度贵州石笔木种子浸提液处理的发芽率、根长、苗高全部小于对照，差异显著(P<0.05)。发芽率、根长、苗高随浸提液浓度的升高而减小，浓度临近 100%时，抑制作用趋于最强。不同初始温度处理的贵州石笔木种子浸提液浸种白菜种子的发芽率、根长、苗高都小于对照，差异显著(P<0.05)；萌芽率、根长和苗高随着浸提液初始温度的升高而降低，初始温度为 100℃的浸提液处理白菜种子生长势最差。

表 1 不同处理浸提液对白菜种子萌发及生长的影响

Table1 Effects of extracts from different treatment extract on the germination and growth of *Brassica pekinensis* seeds

试验的不同处理方式 Different treatments of the test		发芽率 Germination rate (%)	根长生长 Root length (cm)	苗高生长 Seedling height (cm)
	CK	98.00±1.15a	3.65±0.10a	1.37±0.09a
不同部位和不同溶剂的处理试验 Different treatments of part and solvent	胚乳水溶液 Aqueous solution of endosperm	85.33±0.67b	2.71±0.18b	1.19±0.06b
	胚乳甲醇溶液 Methanol solution of endosperm	64.00±1.15c	1.94±0.16c	0.98±0.08c
	种子水溶液 Aqueous solution of seed	30.00±1.15d	0.71±0.04d	0.43±0.07d
	种子甲醇溶液 Methanol solution of seed	18.00±1.15f	0.03±0.01e	0.07±0.02f
	种皮水溶液 Aqueous solution of seed coat	24.67±0.67e	0.48±0.03d	0.21±0.06e

	种皮甲醇溶液 Methanol solution of seed coat	8.67±0.67g	0.01±0e	0.03±0.01f
不同浓度的处理试验（%）Different treatments of concentration	CK	98.00±1.15a	3.65±0.10a	1.37±0.09a
	25	71..33±0.67b	2.19±0.03b	1.17±0.05b
	50	50.67±0.67c	1.30±0.06c	0.86±0.04c
	75	21.33±0.67d	0.90±0.03d	0.58±0.05d
	100	14.00±1.15e	0.43±0.05e	0.21±0.02e
不同温度的处理试验（℃）Different treatments of temperature	CK	98.00±1.15Aa	3.65±0.10Aa	1.37±0.09Aa
	70	54.00±1.15Bb	1.54±0.04Bb	1.19±0.03Bb
	80	31.33±0.67Cc	0.79±0.04Cc	0.98±0.04Cc
	90	24.00±1.15Dd	0.59±0.03Dd	0.43±0.03Dd
	100	14.00±1.15Ee	0.43±0.02Ee	0.21±0.02Ee

注：表中数据为平均值±标准误(n=3)；同列中字母为实验结果平均值多重比较结果；相同字母表示没有显著性差异、不同字母有显著性差异，不同大小写字母间均表示差异显著(P<0.05)，CK 为对照，指不经过任何处理的白菜种子的萌发表现。下同。

Note: The data in the table is the mean ±standard error (n=3); the letters in the same column are the multiple comparison results of the average of the experimental results; the same letters indicate no significant difference, the different letters have significant differences, and the differences between different uppercase andlowercase letters significant (P< 0.05), CK as a control, refers to the germination performance of *Brassica pekinensis* seeds without any treatment. The same below.

2.2 贵州石笔木种子有机相提取物质的种类及含量

2.2.1 种皮和胚乳的石油醚相的提取物质

将离子流程图中峰面积明显的有机化合物进行统计鉴定表明（表 2）：种皮石油醚相提取物主要成分为十六烷酸、十八烷酸、油酸和亚油酸，有机酸类的相对含量占 78.14%，其次是三十碳六烯，相对含量占 21.86%；胚乳石油醚相提取物的主要成分为十六烷酸、十八烷酸、油酸和亚油酸，有机酸类相对含量占 97.57%，其次是油酸甲酯和三十碳六烯，分别占 1.36%和 1.07%。

表 2 贵州石笔木种皮和胚乳的石油醚相提取物质种类及相对含量

Table 2 Types of organic compound and relative content in the petroleum ether extract of *Tutcheria kweichowensis* seed coat and endosperm

不同部位 Different treatments of part	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	中文名 Chinese name	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	峰面积 Peak area	百分含量 Percentage (%)
种皮 Seed coat	42.17	Hexadecanoic acid	十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	1308529158	18.32
	45.58	Squalene	三十碳六烯	$C_{30}H_{50}$	410	1561183295	21.86
	47.72	Octadecanoic acid	十八烷酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	188619481	2.64
	49.09	Oleic acid	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	2726668608	38.17
	51.03	Linoleic acid	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	1358415765	19.02
	合计 Total					7143416307	100

	34.04	Methyl oleate	油酸甲酯	$C_{19}H_{36}O_2$	296	10064742	1.36
	41.99	Hexadecanoic acid	十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	119923955	16.22
	45.03	Squalene	三十碳六烯	$C_{30}H_{50}$	410	7947933	1.07
胚乳 Endosperm	47.52	Octadecanoic acid	十八烷酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	18704120	2.53
	48.66	Oleic acid	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	488748183	66.10
	50.65	Linoleic acid	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	94068572	12.72
	合计 Total					739457505	100

2.2.2 种皮和胚乳的乙醚相提取物质

统计鉴定结果表明（表 3）：种皮乙醚相提取物质主要成分为十六烷酸、十八烷酸、油酸和亚油酸，有机酸类相对含量达到 99.99%；胚乳乙醚相提取物的主要成分为十六烷酸、油酸和亚油酸，有机酸类相对含量占 98.98%，其次是苯酚，相对含量占 1.02%。

表 3 贵州石笔木种皮和胚乳的乙醚相提取物质种类及相对含量

Table 3 Types of organic compound and relative content in the ether phase extract of *Tutcheria kweichowensis* seed coat and endosperm

不同部位 Different treatments of part	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	中文名 Chinese name	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	峰面积 Peak area	百分含量 Percentage (%)
	48.51	Octadecanoic acid	十八烷酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	247556733	3.66
	42.47	Hexadecanoic acid	十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	1350004149	19.98
种皮 Seed coat	49.64	Oleic acid	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	3866297676	57.22
	51.60	Linoleic acid	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	1292639760	19.13
	合计 Total					6756498318	100
	26.57	Phenol	苯酚	C_6H_6O	94	72188816	1.02
	42.17	Hexadecanoic acid	十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	1337240391	18.84
胚乳 Endosperm	48.66	Oleic acid	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	4506975162	63.51
	50.65	Linoleic acid	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	1180607741	16.64
	合计 Total					7097012110	100

2.2.3 种皮和胚乳的乙酸乙酯相提取物

统计鉴定结果如表 4 所示。种皮乙酸乙酯相提取物质主要成分为乙酸、十六烷酸、十八烷酸、油酸和亚油酸，有机酸类相对含量占 78.14%，其次是三十碳六烯，相对含量为 19.60%，单乙酸甘油酯和甘油二乙酸酯(相对含量分别为 2.49%和 1.36%)；胚乳乙酸乙酯相提取物中主要成分为乙酸、2-甲基丁酸、十六烷酸、十八烷酸、油酸和亚油酸，有机酸类含量达 96.13%，其次是苯酚、油酸甲酯和三十碳六烯，其相对含量分别为 1.32%、1.35%和 1.21%。

表 4 贵州石笔木种皮和胚乳的乙酸乙酯相提取物质种类及相对含量

Table 4 Types of organic compound and relative content in the ethyl acetate extract of *Tutcheria kweichowensis* seed coat and endosperm

不同部位 Different treatments of part	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	中文名 Chinese name	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	峰面积 Peak area	百分含量 Percentage (%)
种皮 Seed coat	30.65	Diacetin	甘油二乙酸酯	$C_7H_{12}O_5$	176	235216720	1.36
	31.67	Monoacetin	单乙酸甘油酯	$C_5H_{10}O_4$	134	430667929	2.49
	13.89	Acetic acid	乙酸	$C_2H_4O_2$	60	2639134658	15.26
	42.22	Hexadecanoic acid	十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	2422498013	14.01
	45.99	Squalene	三十碳六烯	$C_{30}H_{50}$	410	3388795507	19.60
	47.87	Octadecanoic acid	十八烷酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	399669890	2.31
	49.23	Oleic acid	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	4794462543	27.73
	51.20	Linoleic acid	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	2979418780	17.23
	合计 Total					17289864040	100
胚乳 Endosperm	19.61	2-Methylbutanoic acid	2-甲基丁酸	$C_5H_{10}O_2$	102	28799326	1.48
	26.54	Phenol	苯酚	C_6H_6O	94	25694450	1.32
	34.03	Methyl oleate	油酸甲酯	$C_{19}H_{36}O_2$	296	26278056	1.35
	14.51	Acetic acid	乙酸	$C_2H_4O_2$	60	149153537	7.66
	42.01	Hexadecanoic acid	十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	361363987	18.57
	45.05	Squalene	三十碳六烯	$C_{30}H_{50}$	410	23524152	1.21
	47.54	Octadecanoic acid	十八烷酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	70036445	3.60
	48.76	Oleic acid	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	944566996	48.53
	50.72	Linoleic acid	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	316989721	16.29
	合计 Total					1946406670	100

2.2.4 种皮和胚乳的甲醇相提取物质

统计鉴定结果显示了 19 种有机化合物（表 5）。种皮中的主要成分乙酸、2-甲基丁酸、2-甲基巴豆酸、十六烷酸、十八烷酸、油酸、亚油酸、丙酮醇、1,3-丁二醇、糠醇、乙醇醛、糠醛、5-(羟甲基)糠醛、2-羟基 - γ -丁内酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、苯酚等 17 种有机化合物，其中有机酸类相对含量占 67.27%，醛类、醇类、脂类和苯酚的相对含量分别占 11.77%、9.35%、7.48%、4.13%。胚乳中的主要成分为乙酸、十六烷酸、十八烷酸、油酸、亚油酸、苯酚、1,2,3-丙三醇、5-(羟甲基)糠醛、三十碳六烯等 9 种有机化合物，其中有机酸类相对总含量为 91.14%，烯类、醇类、醛类和酚类分别占 4.10%、2.70%、1.05%和 1.03%。

表 5 贵州石笔木种皮和胚乳的甲醇相提取物质种类及相对含量

Table 5 Types of organic compound and relative content he methanol phase extract of *Tutcheria kweichowensis* seed coat and endosperm

不同部位 Different treatments of part	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	中文名 Chinese name	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	峰面积 Peak area	百分含量 Percentage (%)

种皮 Seed coat	10.24	Acetone alcohol	丙酮醇	$C_3H_6O_2$	74	82423414	6.66
	10.85	Glycolic aldehyde	乙醇醛	$C_2H_4O_2$	60	20328941	1.64
	14.37	Furfural	糠醛	$C_5H_4O_2$	96	27626567	2.23
	17.20	1,3-Butanediol	1,3-丁二醇	$C_4H_{10}O_2$	90	16015625	1.29
	19.14	Furfuryl alcohol	糠醇	$C_5H_6O_2$	98	17293322	1.40
	19.63	2-Methylbutanoic acid	2-甲基丁酸	$C_5H_{10}O_2$	102	73359294	5.93
	23.48	2-Methylcrotonic acid	2-甲基巴豆酸	$C_5H_8O_2$	100	18892019	1.53
	29.70	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	2-羟基 - γ-丁内酯	$C_4H_6O_3$	102	43093919	3.48
	33.99	Methyl oleate	油酸甲酯	$C_{19}H_{36}O_2$	296	22264229	1.80
	34.79	Methyl linoleate	亚油酸甲酯	$C_{19}H_{34}O_2$	294	27222118	2.20
	14.48	Acetic acid	乙酸	$C_2H_4O_2$	60	253004783	20.45
	26.54	Phenol	苯酚	C_6H_6O	94	51055012	4.13
	35.32	5-(Hydroxymethyl)furfural	5-(羟甲基)糠醛	$C_6H_6O_3$	126	97707039	7.90
	41.90	Hexadecanoic acid	十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	84436797	6.82
	47.37	Octadecanoic acid	十八烷酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	19930509	1.61
	48.50	Oleic acid	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	255075075	20.61
	50.54	Linoleic acid	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	127638425	10.32
	合计 Total					1237367088	100
胚乳 Endosperm	32.40	1,2,3-Propanetriol	1,2,3-丙三醇	$C_3H_8O_3$	92	253614721	2.70
	45.29	Squalene	三十碳六烯	$C_{30}H_{50}$	410	384698458	4.10
	14.51	Acetic acid	乙酸	$C_2H_4O_2$	60	152893984	1.63
	26.54	Phenol	苯酚	C_6H_6O	94	96681617	1.03
	35.32	5-(Hydroxymethyl)furfural	5-(羟甲基)糠醛	$C_6H_6O_3$	126	98498215	1.05
	42.12	Hexadecanoic acid	十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	1816621566	19.35
	47.66	Octadecanoic acid	十八烷酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	267259079	2.85
	49.03	Oleic acid	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	3727946520	39.70
	51.05	Linoleic acid	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	2592487896	27.61
	合计 Total					9390702056	100

2.3 种皮和胚乳中提取物的比较分析

比较分析结果表明（表 6），种皮和胚乳中皆含有有机酸、烯、酯、醇、醛、酚等 6 类相对含量较高的有机化合物。在种皮中含有 20 种有机化合物，其中有机酸有 7 种（油酸、亚油酸、十六烷酸、乙酸、十八烷酸、2-甲基丁酸、2-甲基巴豆酸），相对含量为 80.49%；烯类 1 种（三十碳六烯），相对含量为 10.37%；酯类 5 种（2-羟基 - γ -丁内酯、单乙酸甘油酯、亚油酸甲酯、油酸甲酯、甘油二乙酸酯），相对含量为 2.83%；醇类 3 种（丙酮醇、糠醇、1,3-丁二醇），相对含量为 2.34%；醛类 3 种（5-(羟甲基)糠醛、糠醛、乙醇醛），相对含量为 2.92%；酚类 1 种（苯酚），相对含量为 1.03%。在胚乳中含有 11 种有机化合物，其中有机酸 6 种（油酸、亚油酸、十六烷酸、

乙酸、十八烷酸、2-甲基丁酸），相对含量总数为 95.95%，比种皮中含量高 15.46%，胚乳中不含有 2-甲基巴豆酸，烯类 1 种（三十碳六烯），相对含量为 1.59%，比种皮中含量低 8.78%，酯类 1 种(油酸甲酯)，相对含量为 0.68%，比种皮种含量低 1.70%，醇类 1 种（1,2,3-丙三醇），相对含量为 0.67%，比种皮种含量低 2.15%，醛类 1 种（5-羟甲基-糠醛），相对含量为 0.26%，比种皮种含量低 2.66%，酚类 1 种（苯酚），相对含量为 0.84%，比种皮中含量低 0.19%。

表 6 种皮和胚乳提取的有机化合物种类及相对含量

Table 6 Types of organic compound and relative content in seed coat and endosperm

不同部位 Different treatments of part	类别 Category	化合物 Compound	中文名 Chinese name	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	相对含量 Relative content (%)	小计 Subtotal
种皮 Seed coat	酸类 Acids	Oleic acid	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	35.93	80.49
		Linoleic acid	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	16.43	
		Hexadecanoic acid	十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	14.78	
		Acetic acid	乙酸	$C_2H_4O_2$	60	8.93	
		Octadecanoic acid	十八烷酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	2.56	
		2-Methylbutanoic acid	2-甲基丁酸	$C_5H_{10}O_2$	102	1.48	
		2-Methylcrotonic acid	2-甲基巴豆酸	$C_5H_8O_2$	100	0.38	
	烯类 Alkenes	Squalene	三十碳六烯	$C_{30}H_{50}$	410	10.37	10.37
	酯类 Esters	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	2-羟基 - γ-丁内酯	$C_4H_6O_3$	102	0.87	2.83
		Monoacetin	单乙酸甘油酯	$C_5H_{10}O_4$	134	0.62	
		Methyl linoleate	亚油酸甲酯	$C_{19}H_{34}O_2$	294	0.55	
		Methyl oleate	油酸甲酯	$C_{19}H_{36}O_2$	296	0.45	
		Diacetin	甘油二乙酸酯	$C_7H_{12}O_5$	176	0.34	
	醇类 Alcohols	Acetone alcohol	丙酮醇	$C_3H_6O_2$	74	1.67	2.34
		Furfuryl alcohol	糠醇	$C_5H_6O_2$	98	0.35	
		1,3-Butanediol	1,3-丁二醇	$C_4H_{10}O_2$	90	0.32	
	醛类 Aldehydes	5-(Hydroxymethyl)furfural	5-(羟甲基)糠醛	$C_6H_6O_3$	126	1.98	2.92
		Furfural	糠醛	$C_5H_4O_2$	96	0.56	
		Glycolic aldehyde	乙醇醛	$C_2H_4O_2$	60	0.41	
	酚类 Phenols	Phenol	苯酚	C_6H_6O	94	1.03	1.03
		合计 Total				100	100
胚乳 Endosperm	酸类 Acids	Oleic acid	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	54.45	95.95
		Linoleic acid	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	18.31	
		Hexadecanoic acid	十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	18.24	
		Octadecanoic acid	十八烷酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	2.24	
		Acetic acid	乙酸	$C_2H_4O_2$	60	2.32	
		2-Methylbutanoic acid	2-甲基丁酸	$C_5H_{10}O_2$	102	0.37	
	烯类 Alkenes	Squalene	三十碳六烯	$C_{30}H_{50}$	410	1.59	1.59
	酚类 Phenols	Phenol	苯酚	C_6H_6O	94	0.84	0.84

酯类 Esters	Methyl oleate	油酸甲酯	$C_{19}H_{36}O_2$	296	0.68	0.68
醇类 Alcohols	1,2,3-Propanetriol	1,2,3-丙三醇	$C_3H_8O_3$	92	0.67	0.67
醛类 Aldehydes	5-(Hydroxymethyl)furfural	5-(羟甲基)糠醛	$C_6H_6O_3$	126	0.26	0.26
	合计 Total				100	100

3 结论与讨论

3.1 贵州石笔木种子内源抑制物质的醇溶性显著大于水溶性，种皮中的含量显著大于胚乳

（1）采用甲醇和水两种不同溶剂提取贵州石笔木种子浸提液进行试验，检测白菜种子发芽率、根长和苗高的结果都小于对照，其抑制大小顺序为种皮甲醇溶液>种子甲醇溶液>种皮水溶液>种子水溶液>胚乳甲醇溶液>胚乳水溶液，差异显著($P<0.05$)，即表明贵州石笔木种子内源抑制物质的醇溶性显著大于水溶性，醇溶性成分比水溶性成分活跃。

（2）贵州石笔木的种皮和胚乳中共有 5 类 10 种有机化合物，其中酸类有：油酸、亚油酸、十六烷酸、十八烷酸、乙酸、2-甲基丁酸共 6 种；烯类有三十碳六烯 1 种；酚类有苯酚 1 种；脂类有油酸甲酯 1 种；醛类有 5-(羟甲基)糠醛 1 种，种皮相对于胚乳特有的有机化合物有 11 种，分别为乙酸、2-甲基巴豆酸、2-羟基 - γ -丁内酯、单乙酸甘油酯、亚油酸甲酯、甘油二乙酸酯、丙酮醇、糠醇、1,3-丁二醇、糠醛、乙醇醛，胚乳相对于种皮特有的有机化合物仅有 1,2,3-丙三醇 1 种。采用种子浸提液浸种白菜种子，通过不同处理的发芽率、主根长、幼苗高都低于对照，种皮、胚乳浸提液对白菜种子的萌发产生了抑制作用，种皮浸提液抑制作用最大，胚乳浸提液的抑制作用最小，差异显著（$P<0.05$），说明贵州石笔木种子内源抑制物质在种皮中的含量高于胚乳。

3.2 贵州石笔木种子内源的烯、醛、醇、酯类是起主要作用的种子萌发抑制物质

依次采用石油醚、乙醚、乙酸乙酯和甲醇为浸提溶剂分离提取，得到贵州石笔木种子的种皮、胚乳各浸提液高效液相，经 GC-MS 分析鉴定，得到六类 20 种相对含量较高的有机化合物，分别是有机酸类、烯类、酚类、酯类、醇类、醛类等，其中有机酸类相对含量占绝对优势，种皮中有机酸类相对含量为 67.27%~99.99%、胚乳中有机酸类相对含量占 91.14%~98.98%。总体上，在胚乳中有机酸含量大于种皮，其中可作为脂肪主要成分的油酸和亚油酸含量分别占到了 54.45%和 18.31%，这可能与种子的后熟及萌发营养供给有关。试验检测到种皮浸提物活性显著高于胚乳浸提物活性($P<0.05$)，且其烯、醛、醇和脂类含量分别高出胚乳含量的 8.78%、2.66%、2.15%和 1.70%，说明种子内源的烯类、醛类、醇类、酯类是对种子萌发起主要作用的内源抑制物质。

3.3 100 ℃水中浸种冷却至室温后播种，可显著促进贵州石笔木种子萌芽和出苗

试验检测到在不同温度的浸提液中，抑制物活性呈现有规律变化，不同初始温度处理下的种子浸提液对白菜种子萌发和生长的影响表明，浸种温度在 100 ℃时，白菜幼苗生长最差，显著低

于 60~90 ℃处理的白菜种子之幼苗生长（$P<0.05$），说明贵州石笔木种子内源抑制物在初始温度为 100 ℃水中的溶解度更高，结合贵州石笔木种子萌发特性及幼苗生长规律的研究报道（吕晓梅等，2017），在初始温度为 100 ℃的水中浸种自然冷却至室温后播种，可有效减轻其内源抑制物质对种子萌发的抑制作用，显著地促进其种子的萌发和幼苗生长，有效提高苗木培育的质量和效益，这在农林业生产应用方面具有重要应用价值。

参考文献：

CHEN LY, 2016. A Preliminary study on the inhibitors of the internal and external dormancy of *Phellodendron amurense* [D]. Harbin: Northeast Forestry University. [陈路瑶，2016．黄檗种子休眠的内外源抑制物的初步研究[D]．哈尔滨：东北林业大学．]

CHEN M, YANG P, LU RE, et al., 2017. Study on the causes regulation and elimination of dormancy of seeds[J]. Seed Technology, (2):86-90. [陈敏，杨平，路蕊娥，等，2017．种子休眠原因、调控及破除休眠措施探究[J]．种子科技，(2)：86-90．]

CHEN SK, 2013. SPSS statistical analysis from entry to master [M]. Beijing: Tsinghua University Press. [陈胜可，2013．SPSS 统计分析从入门到精通[M]．北京：清华大学出版社．]

HUANG YG,CUI SY, LU Q, et al., 1994. Growth Inhibitors in American Ginseng seed[J]. J Jilin Agric Univ, 16(2):9-14. [黄耀阁，崔树玉，鲁歧，等，1994．西洋参种抑制物质的初步研究[J]．吉林农业大学学报，16(2)：9-14．]

HU JJ,JIAN DF,CHEN G, et al., 2016. Germination Inhibitions in Different Parts of Seeds of *Taxus cuspidate*[J]. J NE For Univ, 44(6):11-12+22. [胡俊杰，建德锋，陈刚，等，2016．东北红豆杉种子不同部位抑制萌发物质比较[J]．东北林业大学学报，44(6)：11-12+22．]

JING XM, ZHENG GH, 1999.The characteristics in seed germination and dormancy of four wild species of tree peonies and their bearing on endangerment[J]. Acta Phytophysiol Sin, 25(3):214-221.[景新明，郑光华，1999．4 种野生牡丹休眠和萌发特性及与其致濒的关系[J]．植物生理学报，25(3) ： 214-221．]

LIAO YL, CAI SZ, LI X, et al., 2016. Preliminary study of endogenous inhibitors activity of *Euscaphis japonica* seeds[J]. Guihaia, 36(5):600－606.[廖源林，蔡仕珍，李西，等，2016．野鸦椿种子内源抑制物活性初探[J]．广西植物，36(5)：600-606．]

LIU CM, CHENG YF, LIU YX, et al., 2016. Molecular mechanism of seed development in plants[J]. Chin Basic Sci, 2:1-13. [刘春明，程佑发，刘永秀，等，2016．植物种子发育的分子机理［J］．中国基础科学 植物科学专刊，2:1-13．]

LIU HY, 2007. Studies on *ex situ* and propagation application of important wild ornamental plants from Guizhou[D]. Guiyang: Guizhou Normal University, 2007. [刘海燕，2007．贵州重要野生观赏植物的引种繁殖和应用栽培技术研究[D]．贵阳：贵州师范大学.]

LIU C, FU QC, LUO ZM, et al., 2013. Preliminary study on germination inhibitors from *Sinojackia sarcocarpa* drupe[J]. N Hortic, (4):20-24. [刘超，伏秦超，罗正敏，等，2013．肉果秤锤树核果中萌发抑制物质的初步研究[J]．北方园艺，(4)：20－24.]

LIU X, CHEN L, GAO HD, 2018. Endogenous screening of *Torreya grandis* seeds inhibitting their germination and growth[J]. J SW For Univ, 38(1):28-33.[刘序，陈黎，高捍东，2018．香榧种子抑制其发芽和生长的内源物筛选研究[J]．西南林业大学学报，38(1)：28-33.]

LÜ XM, LIU HY, ZOU TC, 2017. Studies on seed germination characteristics and seedling growth of *Tutcheria kweichowensis* Chang et Y.K.Li[J]. J Tropical Subtrop Bot, 25(6):554-561. [吕晓梅，刘海燕，邹天才，2017．贵州石笔木种子萌发特性及幼苗生长规律的研究 [J]．热带亚热带植物学报，25（6）：554-561．]

KHAN AA, 1989. The physiological and biochemical of seed dormancy and germination[M]. Beijing: China Agriculture Press:37-40.[卡恩，1989．种子休眠和萌发的生理生化[M].北京：中国农业出版社：37－40．]

NIAN HH, ZHANG CC, LI XX, et al., 2012. Preliminary study on the activity of endogenesis inhibitory substances of extracts of *Taxus Mairei* seeds handled by different treatments[J]. Zhejiang Univ Trad Chin Med, 36(9):1021－1024. [年慧慧，张春椿，李效贤，等，2012．不同处理方法南方红豆杉种子浸提液内源抑制物活性研究初探［J］. 浙江中医药大学学报[J]. 36(9)：1021－1024．]

SONG HX, LIU GL, GAO SP, et al., 2012. Effects of crude extracts of *Paeonia decomposita* seeds on germination and activities of antioxidant enzyme of *Brassica pekinensis*[J]. Acta Hortic Sin, 39(2):370－374. [宋会兴，刘光立，高素萍，等，2012．四川牡丹种子浸提液内源抑制物活性初探[J]．园艺学报，39(2)：370－374．]

SUN XG, DING Y, GUO TJ, et al., 2016. Activities and GC-MS identification of endogenous inhibitory substances in endosperm of *Paeonia ostii*[J]. J NW A & F Univ (Nat Sci Ed), 44(5): 177-184.[孙晓刚，丁言，郭太君，等，2016．凤丹胚乳内源抑制物质活性及其成分的 GC-MS 鉴定 [J]．西北农林科技大学学报（自然科学版），44(5)：177-184．]

SUN J, GUO JF, WEI SN, 2012. Overviewon inhibitorsof plant seed germination[J]. Seed, 31(4):57-61.[孙佳，郭江帆，魏朔南，2012．植物种子萌发抑制物研究概述[J]．种子，31(4)：57－61．]

YE CF, 1994. Seed science[M]. Beijing: Agricultural Press of China.[叶常丰，1994．种子学[M]．北京：中国农业出版社．]

ZHAO M, 2003. The separation , purification and identification of the endogenous inhibitory substances in seeds of *Schisandra chinensis*[J]. Plant Physiol Commun, 39(6): 651-654.[赵敏，2003．北五味子种子中内源抑制物质的分离、纯化和鉴定[J]．植物生理学报，39(6)：651-654．]

ZHANG HD, REN SX, 1998. FRPS [M]. Beijing: Science Press, 49: 197－198.[张宏达，任善湘，1998．中国植物志， 第 49 卷 [M]．北京：科学出版社，49：197－198．]

ZHONG SB, 1988. Germination physiology[M]. Beijing: Agricultural Press. [中山包，1998．发芽生理学[M]．北京：农业出版社．]

ZOU TC, 2001. Study on germ plasma resources and utilization evaluation for guizhou endemic spermatophyte [J]. Sci Silv Sini, 3:46-57. [邹天才，2001．贵州特有种子植物种质资源与利用评价研究[J]．林业科学，3：46-57．]